



PCT
 WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
 Internationale Büro
 INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
 INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

<p>(51) Internationale Patentklassifikation 5 : C12P 1/00, C12M 1/04 C12P 7/18 // (C12P 1/00 C12R 1/145)</p>	A1	<p>(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 91/15590</p> <p>(43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 17. Oktober 1991 (17.10.91)</p>		
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 50%; vertical-align: top; padding: 5px;"> <p>(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP91/00569</p> <p>(22) Internationales Anmeldedatum: 25. März 1991 (25.03.91)</p> <p>(30) Prioritätsdaten: P 40 10 523.7 2. April 1990 (02.04.90) DE</p> <p>(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): HEN- KEL KOMMANDITGESELLSCHAFT AUF AKTIEN [DE/DE]; Henkelstraße 67, D-4000 Düsseldorf 13 (DE). GBF-GESELLSCHAFT FÜR BIOTECHNOLOGI- SCHE FORSCHUNG MBH [DE/DE]; Mascheroder Weg 1, D-3300 Braunschweig (DE).</p> <p>(72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): DECKWER, Wolf-Dieter [DE/DE]; Olmsweg 56, D-2900 Oldenburg (DE). GÜN- ZEL, Bernd [DE/DE]; Mascheroder Weg 1, D-3300 Braunschweig (DE). YONSEL, Sems [TR/DE]; Georg Wolff Straße 13, D-6450 Hanau 1 (DE). CARDUCK, Franz-Josef [DE/DE]; Landstraße 18, D-5657 Haan (DE). KRETSCHMANN, Josef [DE/DE]; Friedensstra- ße 19, D-4018 Langenfeld (DE).</p> </td> <td style="width: 50%; vertical-align: top; padding: 5px;"> <p>(74) Gemeinsamer Vertreter: HENKEL KOMMANDITGE- SELLSCHAFT AUF AKTIEN; TFP-Patentabteilung, Henkelstraße 67, D-4000 Düsseldorf 13 (DE).</p> <p>(81) Bestimmungsstaaten: AT (europäisches Patent), BE (euro- päisches Patent), CH (europäisches Patent), DE (euro- päisches Patent), DK (europäisches Patent), ES (euro- päisches Patent), FR (europäisches Patent), GB (euro- päisches Patent), GR (europäisches Patent), IT (europäi- sches Patent), JP, LU (europäisches Patent), NL (euro- päisches Patent), SE (europäisches Patent), US.</p> <p>Veröffentlicht Mit internationalem Recherchenbericht.</p> </td> </tr> </table>			<p>(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP91/00569</p> <p>(22) Internationales Anmeldedatum: 25. März 1991 (25.03.91)</p> <p>(30) Prioritätsdaten: P 40 10 523.7 2. April 1990 (02.04.90) DE</p> <p>(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): HEN- KEL KOMMANDITGESELLSCHAFT AUF AKTIEN [DE/DE]; Henkelstraße 67, D-4000 Düsseldorf 13 (DE). GBF-GESELLSCHAFT FÜR BIOTECHNOLOGI- SCHE FORSCHUNG MBH [DE/DE]; Mascheroder Weg 1, D-3300 Braunschweig (DE).</p> <p>(72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): DECKWER, Wolf-Dieter [DE/DE]; Olmsweg 56, D-2900 Oldenburg (DE). GÜN- ZEL, Bernd [DE/DE]; Mascheroder Weg 1, D-3300 Braunschweig (DE). YONSEL, Sems [TR/DE]; Georg Wolff Straße 13, D-6450 Hanau 1 (DE). CARDUCK, Franz-Josef [DE/DE]; Landstraße 18, D-5657 Haan (DE). KRETSCHMANN, Josef [DE/DE]; Friedensstra- ße 19, D-4018 Langenfeld (DE).</p>	<p>(74) Gemeinsamer Vertreter: HENKEL KOMMANDITGE- SELLSCHAFT AUF AKTIEN; TFP-Patentabteilung, Henkelstraße 67, D-4000 Düsseldorf 13 (DE).</p> <p>(81) Bestimmungsstaaten: AT (europäisches Patent), BE (euro- päisches Patent), CH (europäisches Patent), DE (euro- päisches Patent), DK (europäisches Patent), ES (euro- päisches Patent), FR (europäisches Patent), GB (euro- päisches Patent), GR (europäisches Patent), IT (europäi- sches Patent), JP, LU (europäisches Patent), NL (euro- päisches Patent), SE (europäisches Patent), US.</p> <p>Veröffentlicht Mit internationalem Recherchenbericht.</p>
<p>(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP91/00569</p> <p>(22) Internationales Anmeldedatum: 25. März 1991 (25.03.91)</p> <p>(30) Prioritätsdaten: P 40 10 523.7 2. April 1990 (02.04.90) DE</p> <p>(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): HEN- KEL KOMMANDITGESELLSCHAFT AUF AKTIEN [DE/DE]; Henkelstraße 67, D-4000 Düsseldorf 13 (DE). GBF-GESELLSCHAFT FÜR BIOTECHNOLOGI- SCHE FORSCHUNG MBH [DE/DE]; Mascheroder Weg 1, D-3300 Braunschweig (DE).</p> <p>(72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): DECKWER, Wolf-Dieter [DE/DE]; Olmsweg 56, D-2900 Oldenburg (DE). GÜN- ZEL, Bernd [DE/DE]; Mascheroder Weg 1, D-3300 Braunschweig (DE). YONSEL, Sems [TR/DE]; Georg Wolff Straße 13, D-6450 Hanau 1 (DE). CARDUCK, Franz-Josef [DE/DE]; Landstraße 18, D-5657 Haan (DE). KRETSCHMANN, Josef [DE/DE]; Friedensstra- ße 19, D-4018 Langenfeld (DE).</p>	<p>(74) Gemeinsamer Vertreter: HENKEL KOMMANDITGE- SELLSCHAFT AUF AKTIEN; TFP-Patentabteilung, Henkelstraße 67, D-4000 Düsseldorf 13 (DE).</p> <p>(81) Bestimmungsstaaten: AT (europäisches Patent), BE (euro- päisches Patent), CH (europäisches Patent), DE (euro- päisches Patent), DK (europäisches Patent), ES (euro- päisches Patent), FR (europäisches Patent), GB (euro- päisches Patent), GR (europäisches Patent), IT (europäi- sches Patent), JP, LU (europäisches Patent), NL (euro- päisches Patent), SE (europäisches Patent), US.</p> <p>Veröffentlicht Mit internationalem Recherchenbericht.</p>			
<p>(54) Title: ANAEROBIC FERMENTATION PROCESS</p> <p>(54) Bezeichnung: ANAEROBES FERMENTATIONSVERFAHREN</p> <p>(57) Abstract</p> <p>The aim is to improve the conduct of a process for the microbial conversion of a substrate to form a metabolite in anaerobic conditions. To do so, a tower-like pneumatic reactor without any mechanically actuated components is used as the fermenter and gas bubbles are generated to start the process during fermentation by forcing an oxygen-free gas in the lower region of the reactor.</p> <p>(57) Zusammenfassung</p> <p>Bei einem Verfahren zur mikrobiellen Umsetzung eines Substrats zu einem Metaboliten unter anaeroben Bedingungen sollte die Verfahrensführung verbessert werden. Dies gelang dadurch, daß als Fermenter ein turmartiger pneumatischer Reaktor ohne mechanisch bewegte Einbauten eingesetzt wird, und daß zur Durchführung des Fermentationsansatzes während der Fermentation durch Einpressen eines sauerstofffreien Gases im unteren Bereich des Reaktors Gasblasen erzeugt werden.</p> <p style="text-align: center; margin-top: 50px;">  </p>				

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Code, die zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AT	Österreich	ES	Spanien	ML	Mali
AU	Australien	FI	Finnland	MN	Mongolei
BB	Barbados	FR	Frankreich	MR	Mauritanien
BE	Belgien	GA	Gabon	MW	Malawi
BF	Burkina Faso	GB	Vereinigtes Königreich	NL	Niederlande
BG	Bulgarien	GN	Guinea	NO	Norwegen
BJ	Benin	GR	Griechenland	PL	Polen
BR	Brasilien	HU	Ungarn	RO	Rumänien
CA	Kanada	IT	Italien	SD	Sudan
CF	Zentrale Afrikanische Republik	JP	Japan	SE	Schweden
CG	Kongo	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	SN	Senegal
CH	Schweiz	KR	Republik Korea	SU	Sowjet Union
CI	Côte d'Ivoire	LI	Liechtenstein	TD	Tschad
CM	Kamerun	LK	Sri Lanka	TG	Togo
CS	Tschechoslowakei	LU	Luxemburg	US	Vereinigte Staaten von Amerika
DE	Deutschland	MC	Monaco		
DK	Dänemark	MG	Madagaskar		

"Anaerobes Fermentationsverfahren"

Die Erfindung betrifft die Durchführung eines anaeroben Fermentationsverfahrens mit Hilfe von Gasblasen durchmischten turmartigen Reaktor.

Turmartige pneumatische Reaktoren sind in der Fermentationstechnik seit vielen Jahren bekannt. Einfachere Ausführungsformen sind zylinderförmige Behälter, die von unten begast werden. Derartige Vorrichtungen werden üblicherweise als Blasensäulen-Reaktoren bezeichnet. Zur Verbesserung des Sauerstoffaustausches bei aeroben Prozessen wurden derartige Blasensäulenfermenter mit Einbauten versehen, die die Gasblasen ablenken und damit deren Weg durch das Fermentationsmedium verlängern. Derartige Reaktoren mit Leitrohren zur Strömungsstabilisierung werden im allgemeinen Airlift-Reaktoren genannt. Zu einer ausführlichen Abhandlung über Reaktionstechnik in Blasensäulen siehe Wolf-Dieter Deckwer in Grundlagen der chemischen

Technik, Herausgeber: Prof. Dr. Kurt Dialer, Dr. Juri Pawlowski und Dr. Wolfgang Springe, Verlage: Otto Salle, Frankfurt und Sauerländer, Aarau, Seiten 13 bis 25. In der wissenschaftlichen Literatur finden sich zahlreiche Hinweise auf die Verwendung von Blasensäulenfermentern bzw. Airlift-Reaktoren. Verwiesen sei beispielsweise auf die folgenden Literaturstellen:

1. Bauer, G., Paar, H., Nussbaumer, M., Moser, A., Prep. Ger. Jap. Symp. Bubble Columns, June, 13-15, 1988, Schwerte, GVC, Düsseldorf 1988, 173-178
2. Wörnle, R., Deger, H.M. Prep. Ger. Jap. Symp. Bubble Columns, June, 13-15, 1988, Schwerte, GVC, Düsseldorf 1988, 159-162
3. Schäfer, H., Deger, H.M., Biotechnologie Forum 6 (1989) 3, 162-166
4. Blenke, H., Adv. Biochem. Eng. 13 (1979) 122-214
5. Adler, I., Fiechter, A., Swiss Biotech 1 (1983) 2, 17 - 24
6. Fröhlich, S., Charakterisierung von Turmreaktoren im Labor- und Pilotmaßstab, VDI-Verlag, Düsseldorf 1987
7. Moo-Young, M., Halard, R., Biotech. Bioeng 30 (1987) 746-753
8. Lesniak, W., Podgorski, W., Pietkiewicz, J., Chemical Abstracts 104 (1986) 427
9. Richmond, C., BioEngineering 1 (1986) 62-63
10. Birch, J.R., Trends in Biotechn. 3 (1985) 7, 162-166

11. Rhodes, M., Birch, J.R., *Biotechnology* 6 (1988) 518-523
12. Blenke, H., *Biotechnologie Forum* 5 (1988)1, 6-23
13. Westlake, R., *Chem.-Ing.-Tech.* 58 (1986) 12, 934-937
14. Kanawasa, M., in Tannenbaum, S.R., Wang, D.I.C. (Eds), *Single Cell Protein II*, MIT-Press, Cambridge 1975, 438-453
15. Cooper, P.G., Silver, R.S., in Tannenbaum, S.R., Wang, D.I.C. (Eds), *Single Cell Protein II*, MIT Press, Cambridge 1975, 454-466
16. Blenke, H., in Rehm, H.J., Reed, G. (Eds), *Biotechnology Volume 2* VCH, Weinheim 1985, 465 ff
17. Leistner, G., Müller, G., *Chem.-Ing.-Tech.* 51 (1979) 4, 288-294
18. Zlokarnik, M., in Rehm, H.J., Reed, G. (Eds), *Biotechnology Volume 2*, VCH, Weinheim 1985, 537 ff.
19. Deckwer, W.-D.: *Reaktionstechnik in Blasensäulen*, Sauerländer + Salle, Frankfurt, 1985
20. Deckwer, W.-D.: *Bubble Column Reactors*, in *Biotechnology Vol.2* Eds. H.-J. Rehm and G. Reed, VCH, Weinheim 1985

Dem Einsatz von Blasensäulenfermentern bzw. Airlift-Reaktoren lagen bisher Überlegungen zugrunde, den bei aeroben Fermentationen benötigten Sauerstoff gleichzeitig zum Durchmischen des Reaktorinhaltes zu verwenden. Für den Fermentationsfachmann verbot sich daher der Einsatz von Blasensäulen-Reaktoren und insbesondere von Airlift-Reaktoren bei anaeroben Prozessen. Anaerobe Fermentationen benötigen bekanntlich keinen Sauerstoff.

Für anaerobe Fermentationen wurden bisher in erster Linie Rühr- oder Rieselbettreaktoren vorgeschlagen. Verglichen mit einem pneumatischen Reaktor wird beim Rührreaktor ein höherer Energieeintrag während der Fermentation benötigt und es können entlang der Rührerwelle Abdichtungs- und Sterilitätsprobleme auftreten. Andere Vorschläge für die Durchführung anaerober Fermentationen beziehen sich auf Wirbelschicht-Reaktoren mit immobilisierten Mikroorganismen, so beispielsweise Qureshi, N., Maddox, I.S., Bioprocess Eng.3 (1988) 69-72. Eine derartige Wirbelschichttechnik ist für großtechnische Anwendungen sehr aufwendig und bedarf hoher Energien zur Umwälzung des Mediums, um ein optimales Wirbelbett zu erzeugen. Häufig wird dabei auch ein Trägermaterial wie etwa Sand zur Immobilisierung der Mikroorganismen benötigt, so daß sich die Frage der Fixierung der Mikroorganismen auf dem Trägermaterial stellt bzw. dafür gesonderter Aufwand nötig wird.

Die Erfindung bricht mit diesem Vorurteil. Es hat sich nunmehr gezeigt, daß Blasensäulenreaktoren mit besonderem Vorteil auch bei anaeroben Fermentationen eingesetzt werden können. Mit besonderem Erfolg können solche Reaktoren bei der Umsetzung von Glycerin zu 1,3-Propandiol mit Hilfe von anaeroben Mikroorganismen verwendet werden.

Gegenstand der Erfindung ist daher ein Verfahren zur mikrobiellen Umsetzung eines Substrats zu einem Metaboliten unter anaeroben Bedingungen in einem Fermenter, dadurch gekennzeichnet, daß

- als Fermenter ein Blasensäulenreaktor ohne mechanisch bewegte Einbauten eingesetzt wird, und daß
- zur Durchführung des Fermentationsansatzes während der Fermentation durch Einpressen eines sauerstofffreien Gases im unteren Bereich des Reaktors Gasblasen erzeugt werden.

Geeignete Blasensäulenfermenter sind senkrecht stehende Zylinder mit Gaseinleitungsmöglichkeiten im unteren Raum, einem Gasabzug im oberen Raum und Zu- und Ableitungsmöglichkeiten für das Fermentationsmedium.

Weiterhin geeignet für das erfindungsgemäße Verfahren sind Airlift-Reaktoren, die gegenüber den Blasensäulenfermentern noch Leitrohre enthalten können. Bei äußerer Flüssigkeitsabströmung und Begasung im Inneren des Leitrohres beträgt der Durchmesser des Leitrohres 60 bis 90 %, vorzugsweise 65 bis 75 %, des Durchmessers des Fermenters. Wird dagegen der Ringraum zwischen zentral angeordnetem Leitrohr und der Fermenter-Innenwand begast, so wird der Leitrohrdurchmesser 40 bis 60 %, vorzugsweise 45 bis 55 % des Fermenter-Durchmessers, gewählt.

Zur Durchmischung wird nach dem erfindungsgemäßen Verfahren vorgeschlagen, ein sauerstofffreies Gas in den unteren Bereich des Reaktors einzupressen. Als sauerstofffreie Gase eignen sich in erster Linie Gärgase. Diese können allein oder in Abmischung mit geeigneten Inertgasen eingesetzt werden. Als Inertgase kommen hier Stickstoff, Kohlendioxid oder Edelgase wie Argon in Frage. Der Begriff sauerstofffreie Gase umfaßt auch Gase mit einem Restsauerstoffgehalt, der so bemessen ist, daß er die Fermentation nicht stört; so z.B. technischen, nicht nachgereinigten Stickstoff. Die Begasungsrate liegt vorzugsweise zwischen 0,001 vvm bis 0,2 vvm, insbesondere zwischen 0,03 und 0,07 vvm.

Nach einer besonders bevorzugten Ausführungsform der Erfindung arbeitet man mit einem Reaktor, der im Kopfbereich über eine Düse verfügt, durch die Flüssigstoffe zudosiert werden können. Es hat sich gezeigt, daß die gezielte Zudosierung von Flüssigstoffen zur Schaumbekämpfung eingesetzt werden kann, wodurch die störende Mitverwendung von Antischaummittel verhindert oder auf ein Minimum begrenzt

werden kann. Das Verfahren sieht dabei vor, am Kopf des Reaktors Prozeßstoffe oder im Kreislauf geführtes Kulturmedium einzusprühen. Unter Prozeßstoffen werden hier Zusatzstoffe verstanden, die zur Aufrechterhaltung der Fermentation benötigt werden, so beispielsweise Neutralisationsmittel bei Fermentationen, die unter pH-Verschiebung stattfinden, Ausgangsprodukte oder besondere Nährstoffe für die Mikroorganismen. Diese Ausführungsform der Erfindung zeigt einen besonderen und unerwarteten Vorteil der Vorgehensweise, da die Fachwelt bei pneumatischen Reaktoren im besonderen Maße mit Schaumproblemen gerechnet hat, die bei den hohen, bei aeroben Prozessen üblichen Begasungsraten auch auftreten.

Nach einer weiteren Ausführungsform der Erfindung kann mit einem Reaktor gearbeitet werden, bei dem das Gas am Boden eingeleitet wird.

Nach einer weiteren Ausführungsform der Erfindung wird vorteilhafterweise mit einem Reaktor gearbeitet, bei dem das Gas über einen Ringbegaser eingeleitet wird. Dabei beträgt der Durchmesser des Ringbegasers vorzugsweise soviel wie der halbe Reaktordurchmesser oder weniger. Den gewählten Lochdurchmesser der Begaser paßt der Fachmann der Höhe der Säule und der Viskosität des Mediums an.

Im Rahmen des erfindungsgemäßen Verfahrens kann der Fachmann den Schlankheitsgrad des eingesetzten Reaktors in weiten Grenzen wählen. Unter Schlankheitsgrad wird hier das Verhältnis von Höhe zu Durchmesser verstanden. Dieses Verhältnis soll vorteilhafterweise im Bereich von 5 bis 20 und insbesondere im Bereich von 5 bis 10 liegen.

Nach einer weiteren Ausführungsform der Erfindung kann mit Reaktoren gearbeitet werden, die über statische Einbauten verfügen, welche die Durchmischung fördern. Derartige Einbauten sind insbesondere Leit-

rohre, die die Zirkulationsströmung pneumatisch betriebener Turmreaktoren stabilisieren.

Durch Einbau der Leitrohre kann man in Blasensäulen einen gelenkten Flüssigkeitsumlauf (Schlaufe) erzeugen, wodurch die Durchmischung verbessert wird. Im einfachsten Fall wird die Schleppwirkung der Blasen und der durch den Dichteunterschied zwischen Flüssigkeit und Gasblasendispersion bedingte Mammuteffekt ausgenutzt und durch ein Einsteckrohr (Leitrohr) die Zirkulationsströmung stabilisiert (Schlaufenströmung). Je nach Anordnung der Begasungseinrichtung unterscheidet man zwischen Mammutschlaufen-Reaktoren mit innerer oder äußerer Flüssigkeitsabströmung. Die Flüssigkeitsrückführung ist auch über ein extern angebrachtes Rohr möglich.

Das erfindungsgemäße Verfahren eignet sich in besonderer Weise zu anaeroben Fermentationsverfahren, bei denen ein Substrat in einen Metaboliten überführt wird, beispielsweise für die fermentative Herstellung von 1,3-Propandiol aus Glycerin. Die fermentative Herstellung von 1,3-Propandiol aus Glycerin ist beispielsweise in der deutschen Patentanmeldung Aktenzeichen P 38 29 618.7 beschrieben. Diese Anmeldung betrifft ein Verfahren zur Umwandlung von Glycerin in 1,3-Propandiol durch Mikroorganismen, dadurch gekennzeichnet, daß man einen Mikroorganismenstamm, ausgewählt aus den Gruppen Clostridium, Enterobakterium, Lactobacillus, Bacillus, Citrobacter, Aerobacter, Klebsiella, der auf einer 5 Gew.-%igen Glycerinlösung als einziger Kohlenquelle unter Standardfermentationsbedingungen Glycerin in 1,3-Propandiol mit einer Raumzeitausbeute von mehr als $0,5 \text{ g} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{l}^{-1}$ umsetzt, und diesen auf Glycerin als einziger Kohlenstoffquelle unter anaeroben Bedingungen zur technischen Umwandlung von Glycerinlösungen mit einer Konzentration von 5 bis 20 Gew.-% Glycerin unter Konstanthaltung des pH-Wertes einsetzt und nach weitgehendem Verbrauch des Glycerins die entstandene Biomasse abtrennt und das Produktgemisch destillativ aufarbeitet.

Ein derartiges Verfahren kann bevorzugt gemäß der hier vorliegenden Erfindung in einem pneumatischen Reaktor, etwa einem Blasensäulenfermenter oder einem Airlift-Reaktor durchgeführt werden. Nach einer bevorzugten Ausführungsform verwendet man dabei als Glycerinlösungen technisches Glycerin, insbesondere technische Glycerinlösungen aus der technischen Verarbeitung von Triglyceriden. Bevorzugt sind Glycerinlösungen mit geringem Restfettsäureanteil. Die Glycerinkonzentration beträgt vorzugsweise 5 bis 20 Gew.-%, insbesondere 10 bis 15 Gew.-%; der pH wird in einem Bereich von 6 bis 9 konstant gehalten, insbesondere zwischen 6,5 und 8.

Die folgenden anaeroben Mikroorganismen eignen sich für das erfindungsgemäße Verfahren: *Clostridium perfringens*, *Clostridium pasteurianum*, *Clostridium acetobutylicum*, *Clostridium butylicum*, *Clostridium butyricum*, *Clostridium beijerinckii*, *Clostridium kantonoi*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus buchneri*, *Citrobacter freundii*, *Aerobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter intermedium*, *Klebsiella aerogenes* oder *Klebsiella oxytoca*.

Für das erfindungsgemäße Verfahren besonders geeignet ist die Umwandlung von Glycerin in 1,3-Propandiol unter Zuhilfenahme eines Stammes *Clostridium butyricum* etwa von *C. butyricum* DSM 5431 und/oder dessen zu 1,3-Propandiolbildung befähigten Mutanten oder Varianten. Dabei ist es ein besonderer Vorteil des Verfahrens, daß die geringe Schaumbildung durch Aufsprühen eines Teils des Fermentationsmediums auf den Schaum beherrscht werden kann, wobei auch die Schlaufenströmung im Airlift-Reaktor zur Schaumbeherrschung beiträgt, so daß kein Entschäumungsmittel oder nur sehr wenig

Entschäumungsmittel mitverwendet werden müssen. Die ansonsten aufwendige Abtrennung des Entschäumungsmittels von den Reaktionsprodukten entfällt dadurch oder wird vereinfacht.

B e i s p i e l e

Beispiel 1

Nach den Angaben des Beispiels 4 der DE-Patentanmeldung P 39 24 423.7 wurde Glycerin mit Hilfe eines Stammes *Clostridium butyricum* DSM 5431 im 50 l Airlift-Fermenter in 1,3-Propandiol überführt. Die Gesamtglycerinkonzentration betrug 119 g/l. Nach einem Zeitraum von 21,4 Stunden wurden unter Verbrauch von 92,8 g/l Glycerin 54,2 g/l 1,3-Propandiol gebildet, was 93 % der insgesamt erzeugten Stoffmenge an 1,3-Propandiol und einer Raumzeitausbeute von 2,54 g/l h entspricht. Während der Fermentation war eine Menge an Antischaummittel (Desmophen^(R)), die einer Zugaberate von 0,75 g/h entsprach, ausreichend. Eine Schaumbildung war praktisch nicht vorhanden. In synchron durchgeführten Vergleichsfermentationen im 0,03 m³ Rührreaktor konnte gezeigt werden, daß der im Rührkesselreaktor auftretende Schaum im Gegensatz zum Betrieb im Airlift-Reaktor durch Zusatz des Antischaummittels Desmophen nicht zu beseitigen war. Während der Fermentation betrug die Begasungsrate mit dem Inertgas Stickstoff $2,5 \cdot 10^{-5}$ m³/sec.

Beispiel 2

In analoger Weise wurde Glycerin mit *Clostridium butyricum* DSM 5431 im 1500 l Airlift-Fermenter umgesetzt. Die Stickstoffbegasungsrate betrug $1,0 \cdot 10^{-3}$ m³/sec. Bei einer Anfangskonzentration des Glycerins von ca. 20 g/l wurden durch weitere Substratzugaben insgesamt 89,2 g/l Glycerin in den Fermenter eingebracht, die vollständig umgesetzt werden konnten. Die Endkonzentration an 1,3-Propandiol

betrug 51,3 g/l entsprechend einer Ausbeute von 70 mol-%, bezogen auf die verbrauchte Substratstoffmenge und einer Raumzeitausbeute von $2,97 \text{ g/l} \cdot \text{h}^{-1}$. Zusätzlich wurden ca. 6 g/l Butyrat und Acetat sowie geringe Mengen Ethanol gebildet.

Eine nennenswerte Schaumbildung trat erst nach einer Kulturzeit von 8,5 h auf, wobei der Schaumteppich sowohl während der Laugezugabe als auch während der Zufütterung von Substrat vollständig zusammenbrach. Zur besseren Ausnützung der schaubekämpfenden Wirkung des Glycerins wurde das Substrat über eine am Reaktordeckel angebrachte Düse in den Kopfraum des Fermenters geführt. Während der Substratzugabe brach die Schaumschicht nahezu völlig zusammen. Nach Beendigung der Substratzugabe wurde über dieselbe Düse Kulturmedium, das über eine Schlauchpumpe abgezogen worden war, eingespritzt. Dabei wurde ebenfalls eine starke Reduzierung der Schaummenge festgestellt.

Patentansprüche

1. Verfahren zur mikrobiellen Umsetzung eines Substrats zu einem Metaboliten unter anaeroben Bedingungen in einem Fermenter, dadurch gekennzeichnet, daß
 - als Fermenter ein Blasensäulenreaktor ohne mechanisch bewegte Einbauten eingesetzt wird, und daß
 - zur Durchführung des Fermentationsansatzes während der Fermentation durch Einpressen eines sauerstofffreien Gases im unteren Bereich des Reaktors Gasblasen erzeugt werden.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß als sauerstofffreie Gase die am Kopf des Reaktors abgezogenen Gärgase und/oder Inertgase wie Stickstoff, Kohlendioxid oder Argon eingesetzt werden.
3. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß die Begasungsrate 0,001 bis 0,2 vvm, vorzugsweise 0,03 bis 0,07 vvm, beträgt.
4. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß zur Schaumbekämpfung Prozeßstoffe und/oder im Kreislauf geführtes Kulturmedium durch eine im oberen Reaktorteil angeordnete Düse auf den Schaum gesprüht werden.
5. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß das Gas am Boden des turmartigen Reaktors zentral - insbesondere axial - über ein Einsteckrohr oder ein Begasungsring eingeleitet wird.

6. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß das Verhältnis Höhe zu Durchmesser des Reaktors zwischen 5 bis 20 und 5 bis 10 gewählt wird.
 7. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß der Reaktor statische Einbauten enthält, die die Durchmischung fördern, insbesondere Schlaufen, die vorzugsweise mittig oder wandgängig angebracht sind und als Trennwand ausgebildet sein können.
 8. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß der Reaktor ein zweites inneres Rohr mit einem Durchmesser von etwa 60 bis 90 %, bevorzugt 65 bis 75 %, des Reaktordurchmessers und bis zu 2/3 Länge des zylindrischen Teils aufweist, um die Durchmischung zu fördern.
 9. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß als Substrat Glycerin eingesetzt wird und dieses in Gegenwart anaerober Mikroorganismen in 1,3-Propandiol umgesetzt wird.
 10. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, daß als anaerobe Mikroorganismen Stämme der Gattung *Clostridium butyricum* eingesetzt werden.
-

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No PCT/EP91/00569

I. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER (If several classification symbols apply, indicate all) * According to International Patent Classification (IPC) or to both National Classification and IPC Int.Cl ⁵ : C12P 1/00, C12M 1/04, C12P 7/18, // (C12P 1/00, C12R 1:145)						
II. FIELDS SEARCHED <div style="text-align: right; font-size: small;">Minimum Documentation Searched ⁷</div> <table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 25%; border: none;">Classification System</td> <td style="border: none;">Classification Symbols</td> </tr> <tr> <td style="border: none; padding: 10px;">Int.Cl⁵</td> <td style="border: none; padding: 10px;">C12P, C12M</td> </tr> </table> <div style="text-align: center; font-size: x-small; margin-top: 5px;"> Documentation Searched other than Minimum Documentation to the Extent that such Documents are Included in the Fields Searched ⁸ </div>			Classification System	Classification Symbols	Int.Cl ⁵	C12P, C12M
Classification System	Classification Symbols					
Int.Cl ⁵	C12P, C12M					
III. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT *						
Category *	Citation of Document, ¹¹ with indication, where appropriate, of the relevant passages ¹²	Relevant to Claim No. ¹³				
X	DE, A1, 3508274 (KERNFORSCHUNGSANLAGE JÜLICH) 11 September 1986 (11.09.86), see claims; abstract	1,7				
X	DE, A1, 3039874 (TOKYO RIKAKIKAI et al.) 1 October 1981 (01.10.81), see claims 1,7: page 4, last paragraph	1,2				
A	EP, A1, 0031258 (KYOWA HAKKO KOGYO) 1 July 1981 (01.07.81), see abstract	1				
<div style="display: flex; justify-content: space-between; font-size: x-small;"> <div style="width: 45%;"> <p>* Special categories of cited documents: ¹⁰</p> <p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier document but published on or after the international filing date</p> <p>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> </div> <div style="width: 45%;"> <p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step</p> <p>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.</p> <p>"Δ" document member of the same patent family</p> </div> </div>						
IV. CERTIFICATION						
Date of the Actual Completion of the International Search 25 June 1991 (25.06.91)		Date of Mailing of this International Search Report 10 July 1991 (10.07.91)				
International Searching Authority European Patent Office		Signature of Authorized Officer				

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/EP 91/00569

I. KLASSIFIKATION DES ANMELDUNGSGEGENSTANDS (bei mehreren Klassifikationssymbolen sind alle anzugeben) ⁶ Nach der internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC C 12 P 1/00, C 12 M 1/04, C 12 P 7/18, 77 (C 12 P 1/00, Int.Cl. ⁵ C 12 R 1:145)														
II. RECHERCHIERTE SACHGEBIETE <div style="text-align: center; border-top: 1px solid black; border-bottom: 1px solid black; margin: 5px 0;"> Recherchierter Mindestprüfstoff⁷ </div> <table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <th style="width: 20%; border: 1px solid black; text-align: left; padding: 2px;">Klassifikationssystem</th> <th style="border: 1px solid black; text-align: left; padding: 2px;">Klassifikationssymbole</th> </tr> <tr> <td style="border: 1px solid black; padding: 5px;">Int.Cl.⁵</td> <td style="border: 1px solid black; padding: 5px;">C 12 P, C 12 M</td> </tr> </table> <p style="text-align: center; font-size: small; margin-top: 5px;">Recherchierte nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Sachgebiete fallen⁸</p>			Klassifikationssystem	Klassifikationssymbole	Int.Cl. ⁵	C 12 P, C 12 M								
Klassifikationssystem	Klassifikationssymbole													
Int.Cl. ⁵	C 12 P, C 12 M													
III. EINSCHLÄGIGE VERÖFFENTLICHUNGEN⁹ <table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <th style="width: 10%; border: 1px solid black; text-align: left; padding: 2px;">Art*</th> <th style="border: 1px solid black; text-align: left; padding: 2px;">Kennzeichnung der Veröffentlichung¹¹, soweit erforderlich unter Angabe der maßgeblichen Teile¹²</th> <th style="width: 10%; border: 1px solid black; text-align: left; padding: 2px;">Betr. Anspruch Nr. ¹³</th> </tr> <tr> <td style="border: 1px solid black; text-align: center; vertical-align: top; padding: 5px;">X</td> <td style="border: 1px solid black; padding: 5px;"> DE, A1, 3 508 274 (KERNFORSCHUNGSANLAGE JÜLICH) 11 September 1986 (11.09.86), siehe Patentansprüche; Zusammenfassung. --- </td> <td style="border: 1px solid black; text-align: center; vertical-align: top; padding: 5px;">1, 7</td> </tr> <tr> <td style="border: 1px solid black; text-align: center; vertical-align: top; padding: 5px;">X</td> <td style="border: 1px solid black; padding: 5px;"> DE, A1, 3 039 874 (TOKYO RIKAKIKAI et al.) 01 Oktober 1981 (01.10.81), siehe Patentansprüche 1, 7; Seite 4, letzter Absatz. --- </td> <td style="border: 1px solid black; text-align: center; vertical-align: top; padding: 5px;">1, 2</td> </tr> <tr> <td style="border: 1px solid black; text-align: center; vertical-align: top; padding: 5px;">A</td> <td style="border: 1px solid black; padding: 5px;"> EP, A1, 0 031 258 (KYOWA HAKKO KOGYO) 01 Juli 1981 (01.07.81), siehe Zusammenfassung. ---- </td> <td style="border: 1px solid black; text-align: center; vertical-align: top; padding: 5px;">1</td> </tr> </table>			Art*	Kennzeichnung der Veröffentlichung ¹¹ , soweit erforderlich unter Angabe der maßgeblichen Teile ¹²	Betr. Anspruch Nr. ¹³	X	DE, A1, 3 508 274 (KERNFORSCHUNGSANLAGE JÜLICH) 11 September 1986 (11.09.86), siehe Patentansprüche; Zusammenfassung. ---	1, 7	X	DE, A1, 3 039 874 (TOKYO RIKAKIKAI et al.) 01 Oktober 1981 (01.10.81), siehe Patentansprüche 1, 7; Seite 4, letzter Absatz. ---	1, 2	A	EP, A1, 0 031 258 (KYOWA HAKKO KOGYO) 01 Juli 1981 (01.07.81), siehe Zusammenfassung. ----	1
Art*	Kennzeichnung der Veröffentlichung ¹¹ , soweit erforderlich unter Angabe der maßgeblichen Teile ¹²	Betr. Anspruch Nr. ¹³												
X	DE, A1, 3 508 274 (KERNFORSCHUNGSANLAGE JÜLICH) 11 September 1986 (11.09.86), siehe Patentansprüche; Zusammenfassung. ---	1, 7												
X	DE, A1, 3 039 874 (TOKYO RIKAKIKAI et al.) 01 Oktober 1981 (01.10.81), siehe Patentansprüche 1, 7; Seite 4, letzter Absatz. ---	1, 2												
A	EP, A1, 0 031 258 (KYOWA HAKKO KOGYO) 01 Juli 1981 (01.07.81), siehe Zusammenfassung. ----	1												
<div style="display: flex; justify-content: space-between; font-size: x-small;"> <div style="width: 45%;"> <p>* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen¹⁰:</p> <p>"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist</p> <p>"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist</p> <p>"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)</p> <p>"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht</p> <p>"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist</p> </div> <div style="width: 50%;"> <p>"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist</p> <p>"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden</p> <p>"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist</p> <p>"G" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist</p> </div> </div>														
IV. BESCHEINIGUNG <table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 50%; border: 1px solid black; padding: 5px;"> Datum des Abschlusses der internationalen Recherche <div style="text-align: center; margin-top: 10px;">25 Juni 1991</div> </td> <td style="width: 50%; border: 1px solid black; padding: 5px;"> Absendedatum des internationalen Recherchenberichts <div style="text-align: center; margin-top: 10px;">10 JUL 1991</div> </td> </tr> <tr> <td style="border: 1px solid black; padding: 5px;"> Internationale Recherchenbehörde <div style="text-align: center; margin-top: 10px;">Europäisches Patentamt</div> </td> <td style="border: 1px solid black; padding: 5px;"> Unterschrift des bevollmächtigten Bediensteten <div style="text-align: center; margin-top: 10px;"> MISS T. TAZELAAR </div> </td> </tr> </table>			Datum des Abschlusses der internationalen Recherche <div style="text-align: center; margin-top: 10px;">25 Juni 1991</div>	Absendedatum des internationalen Recherchenberichts <div style="text-align: center; margin-top: 10px;">10 JUL 1991</div>	Internationale Recherchenbehörde <div style="text-align: center; margin-top: 10px;">Europäisches Patentamt</div>	Unterschrift des bevollmächtigten Bediensteten <div style="text-align: center; margin-top: 10px;"> MISS T. TAZELAAR </div>								
Datum des Abschlusses der internationalen Recherche <div style="text-align: center; margin-top: 10px;">25 Juni 1991</div>	Absendedatum des internationalen Recherchenberichts <div style="text-align: center; margin-top: 10px;">10 JUL 1991</div>													
Internationale Recherchenbehörde <div style="text-align: center; margin-top: 10px;">Europäisches Patentamt</div>	Unterschrift des bevollmächtigten Bediensteten <div style="text-align: center; margin-top: 10px;"> MISS T. TAZELAAR </div>													

ANHANG
zum internationalen Recherchen-
bericht über die internationale
Patentansmeldung Nr.

ANNEX
to the International Search
Report to the International Patent
Application No.

ANNEXE
au rapport de recherche inter-
national relatif à la demande de brevet
international n°

PCT/EP91/00549 SRE 43814

In diesem Anhang sind die Mitglieder
der Patentfamilien der im obenge-
nannten internationalen Recherchenbericht
angeführten Patentdokumente angegeben.
Diese Angaben dienen nur zur Unter-
richtung und erfolgen ohne Gewähr.

This Annex lists the patent family
members relating to the patent documents
cited in the above-mentioned inter-
national search report. The Office is
in no way liable for these particulars
which are given merely for the purpose
of information.

La présente annexe indique les
membres de la famille de brevets
relatifs aux documents de brevets cités
dans le rapport de recherche inter-
national visé ci-dessus. Les renseigne-
ments fournis sont donnés à titre indica-
tif et n'engagent pas la responsabilité
de l'Office.

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument Patent document cited in search report Document de brevet cité dans le rapport de recherche	Datum der Veröffentlichung Publication date Date de publication	Mitglied(er) der Patentfamilie Patent family member(s) Membre(s) de la famille de brevets	Datum der Veröffentlichung Publication date Date de publication
DE-A1- 3508274	11-09-86	CA-A1- 1271572 DE-CO- 3673665 EP-A2- 193969 EP-A3- 193969 EP-B1- 193969 FI-AO- 860964 FI-A - 860964 JP-A2- 61242675 US-A - 4670140	10-07-90 04-10-90 10-09-86 09-12-87 29-08-90 07-03-86 09-09-86 28-10-86 02-06-87
DE-A1- 3039874	01-10-81	BR-A - 8101155 CA-A1- 1160974 DE-C2- 3039874 FR-A1- 2482129 FR-B1- 2482129 GB-A1- 2073243 GB-B2- 2073243 JP-A2- 57019029 JP-B4- 59009211 PH-A - 16807 US-A - 4337315 JP-A2- 56124378 JP-B4- 57021996	08-09-81 24-01-84 29-08-85 13-11-81 02-11-84 14-10-81 05-12-84 01-02-82 01-03-84 01-03-84 29-06-82 30-09-81 11-05-82
EP-A1- 31258	01-07-81	AT-E - 6473 AU-A1- 65823/80 AU-B2- 532987 BR-A - 8008490 CA-A1- 1151526 CH-A - 650413 DE-CO- 3066890 DK-A - 5505/80 DK-B - 152221 DK-C - 152221 EP-B1- 31258 ES-U - 265094 ES-Y - 265094 ES-Y1- 265094 FI-A - 804034 FI-B - 70922 FI-C - 70922 GB-A1- 2066694 GB-B2- 2066694 JP-A2- 56092781 JP-B4- 63024671 MX-A - 153398 US-A - 4327042	15-03-84 02-07-81 20-10-83 14-07-81 09-08-83 31-07-85 12-04-84 26-06-81 08-02-88 20-06-88 07-03-84 01-01-83 16-06-83 15-07-83 26-06-81 18-07-86 27-10-86 15-07-81 01-09-83 27-07-81 21-05-88 07-10-86 27-04-82